

УДК 574.64:57.017.3

ТОКСИЧНОСТЬ СОЛЕЙ НЕКОТОРЫХ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ ДЛЯ ИНFUЗОРИЙ *PARAMECIUM CAUDATUM* В КРАТКОСРОЧНОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

© 2009 А.Е. Васин

Самарский государственный университет, г. Самара.

Поступила 01.02.2009

В статье представлены результаты исследования токсичности солей восьми тяжелых металлов (Co, Cr, Cu, Cd, Hg, Ni, Pb, Sr) для инфузорий *Paramecium caudatum*.

Ключевые слова: токсичность солей, тяжелые металлы.

Несмотря на все принимаемые природоохранные меры, антропогенное воздействие на пресноводные водоемы не только не уменьшается, но и продолжает расти. Результатом является повсеместное ухудшение качества поверхностных вод. Фактически на данный момент на планете не осталось водоемов не подвергающихся загрязнению. Происходит это как путем прямого сброса промышленных и хозяйственно-бытовых отходов, так и в результате атмосферного переноса [1, 2]. Состав химических компонентов попадающих в водоемы постоянно расширяется, но одними из наиболее опасных являются тяжелые металлы. Особенности токсичного воздействия тяжелых металлов на живые организмы делают их особенно опасными для водных экосистем. В отличие от органических поллютантов тяжелые металлы не подвергаются биодеструкции, аккумулируются в как в живых организмах, так и в субстратах, практически не изымаются из водоемов в ходе круговорота веществ. Угнетающее действие тяжелых металлов на все уровни сообществ замедляет процессы самоочистки, а в случае значительного загрязнения тяжелыми металлами снижается видовое разнообразие сообществ, что уменьшает устойчивость экосистем [3, 4]. В связи с этим особую важность приобретают различные методы контроля содержания и поступления тяжелых металлов в пресноводные поверхностные водоемы. Наряду с программами контроля основанными на физико-химических методах измерения содержания тяжелых металлов в водоемах, в последнее время широкое применение получили программы мониторинга состояния качества вод, основанные на методах биондикации. Преимуществом методов биондикации, является получение интегральной оценки состояния водоема, охватывающей не только уровень загрязненности, но и экологическое состояние водоема [5]. Одним из путей совершенствования методов биондикации является использование групп организмов

биоиндикаторов обладающих наибольшей чувствительностью к тяжелым металлам. Поиск таких биоиндикаторов подразумевает предварительные лабораторные исследования чувствительности к токсичному действию тяжелых металлов различных систематических групп организмов. Одной из таких перспективных групп являются пресноводные инфузории, они широко распространены в водоемах, занимают важное место в пищевых цепях, играют заметную роль в самоочистке водоемов. Являясь одноклеточными организмами инфузории одновременно демонстрируют реакции на организменном и клеточном уровне, тем самым расширяя диапазон критериев оценки токсичности поллютантов. К сожалению вопросы реакции инфузорий на тяжелые металлы изучены явно недостаточно.

В проведенном исследовании была изучена токсичность солей 8 тяжелых металлов для инфузорий *P. caudatum* в краткосрочном эксперименте, так же была исследована разница в чувствительности к тяжелым металлам у линий инфузорий полученных из Саратовского и Куйбышевского водохранилищ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Была исследована токсичность нитратов Co, Cr, Cu, Cd, Hg, Ni, Pb и Sr для инфузорий *P. caudatum* в концентрациях 1000, 100, 10, 1, 0,1 и 0,01 мг/л при различных экспозициях (1, 2, 3, 4, 5, 6, 24 и 48 ч.). В качестве объекта исследования использовались моноклональные линии инфузорий *P. caudatum*, выделенные из проб взятых в Саратовском и Куйбышевском водохранилищах. Культуры инфузорий содержались на органической среде, на основе дрожжевого отвара [6], по методике непрерывного культивирования с ежедневной заменой части среды [7], при температуре 22 ± 1 °C. В качестве культиваторов использовались стеклянные колбы объемом 300 и 500 мл.

В растворы тяжелые металлы вносились в виде нитратов $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Hg}_2(\text{NO}_3)_2$, $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. Маточные растворы солей готовились на дистиллированной воде, рабочие растворы приготавливались путем серий последовательных разведений.

Васин Антон Евгеньевич, старший преподаватель кафедры зоологии, генетики и общей экологии
e-mail: vsnanton@rambler.ru

Инфузории отмывались в чистой среде и с помощью микропипетки по 10 штук в минимальном количестве среды помещались в лунки планшета для культуры тканей. Затем с помощью сэмплера в лунки вносилось по 1,8 мл среды и 0,2 мл маточного раствора солей металлов для получения концентрации согласно схеме эксперимента. Каждый опыт для соли металла в каждой концентрации проводился в 5 повторах. Во время эксперимента инфузორий не кормили. Планшеты помещались в термостат, при температуре 22 ± 1 °С. Критерием токсичности соли металла служила гибель инфузороий. Подсчет выживших клеток проводился с помощью бинокулярного микроскопа МБС -10. Неподвижные и изменившие форму клетки считались погибшими.

При статистической обработке полученных результатов для парного сравнения показателей выборок использовался U-критерий Манна-Уитни. Множественные сравнения между выборками проводились с помощью критерия Крускала-

Уоллиса с последующей оценкой различий методом Дана [8]. Различия между выборками считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Как видно из результатов представленных в табл. 1 в концентрации 100 мг/л только Sr не вызывает гибели инфузороий во всем диапазоне экспозиций. Проведенные для определения порога чувствительности эксперименты с концентрацией 1000 мг/л выявили отсутствие реакции у инфузороий. Полученные результаты позволяют говорить о нетоксичности Sr для инфузороий в диапазоне концентраций от 0,1 до 1000 мг/л. Соли остальных металлов по степени токсичности можно разделить на две группы — высокотоксичные (Cu = Hg = Cd = Ni > Cr) и токсичные (Co > Pb). Для солей высокотоксичных металлов разница в токсичности статистически не значима.

Таблица 1. Смертность инфузороий *P. caudatum* (%) при воздействии солей тяжелых металлов в концентрации 100 мг/л

| Тяжелый металл | Время экспозиции (ч.) | | | | | | | |
|----------------|-----------------------|------|------|-----|-----|------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 24 | 48 |
| Co | 7±2 | 30±2 | 70±3 | 100 | | | | |
| Cr | 80±3 | 100 | | | | | | |
| Cu | 100 | | | | | | | |
| Hg | 100 | | | | | | | |
| Cd | 100 | | | | | | | |
| Pb | 0 | 0 | 0 | 0 | 5±1 | 10±3 | 30±3 | 40±4 |
| Sr | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Ni | 100 | | | | | | | |

Таблица 2. Смертность инфузороий *P. caudatum* (%) при воздействии солей тяжелых металлов в концентрации 10 мг/л

| Тяжелый металл | Время экспозиции (ч.) | | | | | | | |
|----------------|-----------------------|------|------|------|-----|-----|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 24 | 48 |
| Co | 0 | 0 | 0 | 0 | 5±2 | 6±3 | 16±3 | 20±1 |
| Cr | 41±2 | 100 | | | | | | |
| Cu | 15±3 | 100 | | | | | | |
| Hg | 100 | | | | | | | |
| Cd | 0 | 7±2 | 20±3 | 60±3 | 100 | | | |
| Pb | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5±1 | 5±3 |
| Sr | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Ni | 19±3 | 45±5 | 100 | | | | | |

Из результатов представленных в табл. 2 видно, что при концентрации солей металлов 10 мг/л тенденция высокой токсичности солей (Hg > Cr > Cu > Ni > Cd) сохраняется, однако проявляется

статистическая разница в токсичности солей разных металлов. В данной концентрации относительная токсичность соли Cr возрастает, разница в токсичности с солями Cu, Ni, Cd является

статистически значимой. Действие солей (Co > Pb) можно охарактеризовать как слаботоксичное, во всем диапазоне экспозиций соли этих металлов не вызывают 100% гибели инфузорий. Соли Co оказывают больший токсичный эффект.

Токсичность соли Pb при экспозиции 24 и 48 часов не имеет статистически значимой разницы, что говорит о достижении низшего уровня токсического воздействия в данном диапазоне экспозиций.

Таблица 3. Смертность инфузорий *P. caudatum* (%) при воздействии солей тяжелых металлов в концентрации 1 мг/л

| Тяжелый металл | Время экспозиции (ч.) | | | | | | | |
|----------------|-----------------------|-----|------|------|------|------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 24 | 48 |
| Co | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Cr | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Cu | 0 | 0 | 15±1 | 45±3 | 55±3 | 100 | | |
| Hg | 37±3 | 100 | | | | | | |
| Cd | 0 | 0 | 0 | 5±2 | 7±1 | 11±2 | 45±3 | 80±3 |
| Pb | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10±4 | 15±4 |
| Sr | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Ni | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 45±5 | 45±4 |

Таблица 4. Смертность инфузорий *P. caudatum* (%) при воздействии солей тяжелых металлов в концентрации 0,1 мг/л

| Тяжелый металл | Время экспозиции (ч.) | | | | | | | |
|----------------|-----------------------|---|---|---|---|---|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 24 | 48 |
| Co | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Cr | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Cu | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 80±1 |
| Hg | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 20±5 |
| Cd | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 30±1 | 35±2 |
| Pb | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Sr | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Ni | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 27±5 | 50±2 |

Из представленных в табл. 3 результатов видно, что тенденция более высокой токсичности (Hg > Cu > Ni > Cd) сохраняется, однако степень токсичности значительно меньше, а уровень различий в токсичности выше. Кроме того наблюдается значительное изменение положение металлов в ряду токсичности. Можно предположить, с этой концентрации начинает проявляться различие в физиологическом действии металлов. Соли Co, Cr, не оказывают токсического действия на инфузорий во всем диапазоне концентраций.

Из данных представленных в табл. 4 видно, что тенденция более высокой токсичности Cd = Ni > Cu > Hg сохраняется, при этом распределение в ряду токсичности при экспозиции 24 и 48 часов значительно различаются. Нитрат Cu не оказывающий токсичного эффекта при экспозиции

в 24 часа является наиболее токсичной солью при времени экспозиции 48 часов.

Полученные данные по тенденциям токсичности для инфузорий солей 7 тяжелых металлов (Co, Cr, Cu, Cd, Hg, Ni, Pb) достаточно точно коррелируют с литературными данными [9 – 12]. Таким образом можно сделать вывод, что инфузории *P. caudatum* по реакции на токсичное действие тяжелых металлов, являются типичным представителем группы свободноплавающих пресноводных инфузорий. Несмотря на наличие литературных данных о обнаружении случаев разной клональной чувствительности простейших к токсикантам, в наших исследованиях статистически значимых различий в чувствительности клональных линий полученных из проб взятых в Саратовском и Куйбышевском водохранилищах не обнаружено. Анализ рядов

токсичности солей металлов показывает, что наиболее токсичными являются металлы не имеющие биологического значения, и не имеющие широкого естественного распространения в природе, менее токсичны соли биофильных металлов. Исключение представляет Cu, несмотря на то, что она является биофильным элементом, ее соль проявляет токсичность во всех концентрациях. Данное явление мы объясняем высокой проницаемостью клеточной мембраны инфузорий для ионов меди.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Reducing lead exposure from drinking water: recent history and current status / Richard P. Maas, Steven C. Patch, Diane M. Morgan, Tamara J. Pandolfo // *Public Health Reports*. 2005. V. 120. P 316-321.
2. Water pollution by agriculture / Brian Moss // *Phil. Trans. R. Soc. B* – 2008 V. 363. P. 659–666.
3. Hazards of heavy metal contamination / J.Lars // *British Medical Bulletin*. 2003. V. 68. № 1. - P. 167-182.
4. Мартин Р. Бионеорганическая химия токсичных ионов металлов// Некоторые вопросы токсичности ионов металлов: Пер. с англ. / Под редакцией Х.Зигеля, А. Зигель. М.: Мир, 1993. С. 25-62.
5. Chronic toxicity of environmental contaminants: sentinels and biomarkers / G.A LeBlanc, L.J. Bain // *Environmental Health Perspectives*. - 1997. - V. 105. - Sup. 1. - P. 65-80.
6. Сазонова В.Е. Использование биотестов при разработке мониторинга водной экосистемы / В.Е. Сазонова, Л.А. Зализняк, Л.М. Савельева // *Экология*. 1997. №3. С.207-212.
7. Кокова В.Е. Непрерывное культивирование беспозвоночных / В.Е. Кокова. Новосибирск. Наука. 1982. 168 с.
8. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц; пер. с англ. М.: Практика. 1998. 459 с.
9. Acute toxicity of heavy metals towards freshwater ciliated protists / P. Madoni, M. G. Romeo // *Environmental Pollution*. 2006. V. 141 P. 1-7.
10. The acute toxicity of nickel to freshwater ciliates / P. Madoni // *Environmental Pollution*. 2000. V. 109. P. 53-59.
11. Acute Toxicity of Lead, Chromium, and Other Heavy Metals to Ciliates from Activated Sludge Plants / P. Madoni [at al.] // *Bull. Environ. Contam. Toxicol*. 1994. V. 53. P. 420-425.
12. Divalent cation affinity sites in *Paramecium aurelia* / G. Fisher, E. S. Kaneshiro, P. D. Peters // *The Journal of Cell Biology*. - 1976. Vol. 69 P. 429-442.

TOXICITY OF SOME HEAVY METALS TOWARDS FRESHWATER CILIATED *PARAMECIUM CAUDATUM* IN SHORT EXPERIMENT

© 2009 A.E. Vasin

Samara State University, Samara

The acute toxicity of eight heavy metals nitrate (Co, Cr, Cu, Cd, Hg, Ni, Pb, Sr) to freshwater ciliates (*Paramecium caudatum*) was examined in laboratory short experiment.

Key words: toxicity of some, heavy metals.